

蛋白质测定方法^{*}

顾晓红

(黑龙江省农科院谷物品质研究中心)

目前,测定谷物、粮食、饲料以及食品等中的蛋白质含量,一般采用凯氏定氮法。众多的凯氏定氮法不同之处主要在消化过程中,使用不同的催化剂,或加入不同数量的硫酸,以及消化时间不同。本文以节能、节时、简便、污染小、一法多用为目的,用美国分析化学家协会标准法(AOAC)、国家标准 GB2905-82法的 0.1g 和 0.2g 称样量,国家标准 GB6432-86 饲料蛋白质测定法,分别用几种样品进行了多次重复测定,分析三种方法的适用范围及实用性。

1 材料与方法

1.1 材料 选有代表性的样品玉米、小麦、大豆、饲料、灵芝、发酵草粉、奶粉各一份为供试材料。

1.2 方法 方法 1 为美国分析化学家协会标准法;方法 2 为谷类、豆类作物种子粗蛋白质测定法(半微量凯氏法) GB2905-82;方法 3 为饲料粗蛋白测定方法 GB6432-86。

1.3 仪器 采用 BUCHI321 型半自动定氮装置。

2 结果与分析

2.1 几种方法主要区别 方法 1 消化采用氧化汞硫酸钾催化剂;方法 2、方法 3 均为硫酸钾、硫酸铜做催化剂,只是加入的量不同(见表 1)。

表 1 几种方法不同催化剂的加入量

催化剂	方法 1	方法 2		方法 3
	称样 0.7~2.2g	0.1g	0.2g	0.5~1.0g
氧化汞(g)	0.7	-	-	-
硫酸钾(g)	10	-	-	10
硫酸铜(g)	-	-	-	0.9
硫酸钾 10 硫酸铜 1	-	2	3	-
浓硫酸(ml)	25	3	5	25

由表 1、表 2 中可以看出,三种方法的称样量不同,以方法 1 称样量最多,其次是方法 3,称样量最少的是方法 2。

几种方法使用的催化剂不同,加入硫酸的量也不同,以方法 2 最为节省试剂,其中,0.1g 称样量的盐、酸比(催化剂与硫酸的比值)是 0.67,消化全过程的时间是 60~90min;0.2g 称样量的盐、酸比是 0.6,消化全过程的时间是 60~90min;方法 3 的盐、酸比是 0.44,消化全过程的时间是 120~150min,消化时间最长。方法 1 的盐、酸比是 0.43,消化全过程的时间是 50~60min,消化时间最短,但因此方法试剂用量大,污染较重,多用于仲裁检验。

2.2 以几种方法对样品的多次测定结果相比较(见表 3) 把 7 个样品分为 7 组,每组为一种

^{*} 收稿日期 1998-12-08

样品的多次重复,从表 3 看出用方法 1 测定 7 组样品,每组极差在 0.47 以下,标准差小于 0.17

表 2 三种方法全程消化时间比较 (min)

样品名称	方法 1	方法 2		方法 3	样品名称	方法 1	方法 2		方法 3
		0.1g	0.2g				0.1g	0.2g	
小麦	50	60	60	120	饲料	60	90	90	150
大豆	60	90	90	150	玉米	50	60	60	120
灵芝	50	—	60	120	奶粉	50	60	60	120
发酵草粉	50	—	60	120					

表 3 几种测定蛋白质含量方法的对比值

样品名称	方法 1			方法 3			方法 2					
	蛋白质测定值			蛋白质测定值			0.1g 称样量			0.2g 称样量		
	平均值	极差	标准差	平均值	极差	标准差	平均值	极差	标准差	平均值	极差	标准差
小麦	12.23	0.43	0.17	12.43	0.59	0.26	12.25	0.39	0.15	12.26	0.18	0.07
大豆	44.57	0.39	0.14	44.75	0.20	0.09	44.54	0.42	0.19	44.51	0.09	0.03
灵芝	13.50	0.37	0.17	13.90	0.60	0.27	—	—	—	13.20	0.12	0.05
发酵草粉	5.07	0.08	0.03	4.98	0.15	0.06	—	—	—	5.08	0.24	0.10
饲料	25.69	0.34	0.13	26.27	0.23	0.10	25.11	0.28	0.12	25.05	0.31	0.12
玉米	14.83	0.36	0.13	15.32	0.40	0.14	14.65	0.33	0.12	14.80	0.16	0.06
奶粉	17.73	0.47	0.17	17.79	0.15	0.06	17.35	1.04	0.45	17.64	0.30	0.12

方法 3 的 7 种样品的多次测定值的极差在 0.06 以下,标准差小于 0.30 可见方法 3 在蛋白质含量较低的样品中重复间波动较大,而在饲料、大豆类蛋白质较高的样品中重复性很好。这说明方法 3 适合于高蛋白质含量的饲料等样品的分析。

方法 2 的 7 种 0.2g 称样量的多次测定值的极差在 0.31 以下,标准差小于 0.12 由表 3 看出方法 2 在增加称样量后几类样品的多次重复测定结果与 0.1g 称样量的测定值非常接近,但标准差和极差均小于 0.1g 称样量的测定值,这说明称样量过低易造成样品的代表性不强,尤其是奶粉类混配食品,生产时加入的糖、糊精等混合不均,称样量过小易造成分析误差增大。

为了比较方法 2 在增加称样量后与其它方法之间是否存在显著性差异,我们进行了统计学分析(见表 4)。

表 4 方法 2 0.2g 称样量与其它方法显著性检验

样品名称	与方法 2 0.1g 称样量	与方法 1 比较	与方法 3 比较	样品名称	与方法 2 0.1g 称样量	与方法 1 比较	与方法 3 比较
	T 检验	T 检验	T 检验		T 检验	T 检验	T 检验
小麦	0.04	0.15	0.83	饲料	0.39	4.39	9.58 *
大豆	0.18	0.46	3.11 *	玉米	1.14	0.21	4.16 *
灵芝		2.34	3.56	奶粉	0.78	0.54	1.41
发酵草粉		0.12	1.27				

注: t_{0.01}= 3.71 t_{0.05}= 2.45

由表 4 可以看出,方法 2 的 0.1g 称样量与 0.2g 称样量之间对不同种类品种的测试中无显著性差异(t < t_{0.05})。方法 1 与方法 2 只有在测定饲料样品上差异显著,而其它样品不显著。

方法 2与方法 3之间,在测定大豆、灵芝、玉米样品时,两方法之间差异显著($P > t_{0.05}$),饲料样品差异极显著。这可能是由于样品中含有较难消化分解的吡啶、嘧啶等六元环氮素化合物,因为方法 3消化全程时间较长,所以使难分解的六元环氮素化合物分解,使结果偏高。而方法 2由于消化时间较短,六元环氮素化合物不能被分解,从而造成测定结果偏低,使两方法之间差异显著。

3 讨论

本文认为方法 2(0.2g 称样量)不但省时节能,省试剂,测定步骤较简单易掌握,污染又小,方法的重现性较好,测定值与方法 1非常接近,即准确度在同一水平上,适用于多种样品的蛋白质分析,但饲料除外。

方法 1虽然消化时间较短,测定结果较稳定,但由于此法较费试剂,并且污染也较大,因此只用于仲裁分析。

方法 3费时,费试剂,费能源,但对蛋白质结构较复杂的饲料等样品的测定是其它方法所代替不了的。

参 考 文 献

- 1 孟淑洁等.谷物、豆类种子中粗蛋白测定方法标准的研究.国外农学—杂粮作物,1996,(3): 44
- 2 营原洁.副岛正美(日).蛋白质的定量法.农业出版社,1981,9